

应用台式 MALDI-TOF-MS 分析蛋白质序列

MALDI-009

摘要： 本文将牛血清白蛋白酶解并脱盐后，以 CHCA (α - 氰基 -4- 羟基肉桂酸) 为基质，应用岛津台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪 MALDI-8020 分析，得到了酶解产物的肽指纹 (PMF) 图谱。以 PMF 图谱检索 Mascot 数据库，匹配到了有效的肽段序列信息，这些肽段归属于牛血清白蛋白 (BSA)。这表明此方法可以鉴定数据库中的蛋白质。

关键词： 基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 蛋白质序列 牛血清白蛋白

MALDI-TOF-MS 因其分析速度快、通量高，是分析蛋白质序列的常用手段之一。传统分析蛋白质序列的 MALDI-TOF 体积较大，价格昂贵，而 MALDI-8020 作为台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱，占地面积小，价格相对较低，性能与同等模式的大型质谱相比毫不逊色，同样可以较为方便地进行分析蛋白质序列。本文以牛血清白蛋白 BSA 为

例，使用胰蛋白酶酶解后，采用 MonoSpin® C₁₈ 除盐，以 CHCA 为基质，应用 MALDI-8020 检测酶解产物，通过 Mascot 软件检索数据库，搜库结果与理论相符，匹配到了 BSA 的肽段序列，验证了 MALDI-8020 的检测结果，表明 MALDI-8020 可以满足蛋白质序列分析的要求。

■ 实验仪器

1.1 仪器

MALDI-8020 台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱仪

1.2 分析条件

调谐模式：线性正离子模式

扫描范围：m/z 600-4000

激光器：355 nm 固态激光器

激光能量：75

■ 样品前处理

取 100 μ g 样品，应用 5 mM DTT (二硫苏糖醇) 和 20 mM IAA (碘乙酰胺) 进行还原烷基化处理后，加入 2 μ L 胰蛋白酶 (0.5 μ g/ μ L) 37°C 酶解过夜。酶解完成后采用 MonoSpin C₁₈ 按照说明书进行脱盐。吸取 0.5 μ L 样品溶液和 0.5 μ L CHCA (5 mg/mL) 基质溶液点靶，自然干燥后送入质谱进行分析。

■ 结果与讨论

BSA 酶解产物的一级质谱检测结果如图 1 所示。从结果来看，酶解产物在 m/z 600-2100 之间检测到显著信号峰。将样品一级肽指纹图谱 (PMF) 通过 Mascot 软件检索数据库 SwissProt (2018_12, 558898 条序列) (参数设置见图 2)，结果如图 3 所示，成功匹配到蛋白质 ALBU_BOVIN (牛血清白蛋白) 的部分肽段序列，与理论一致。

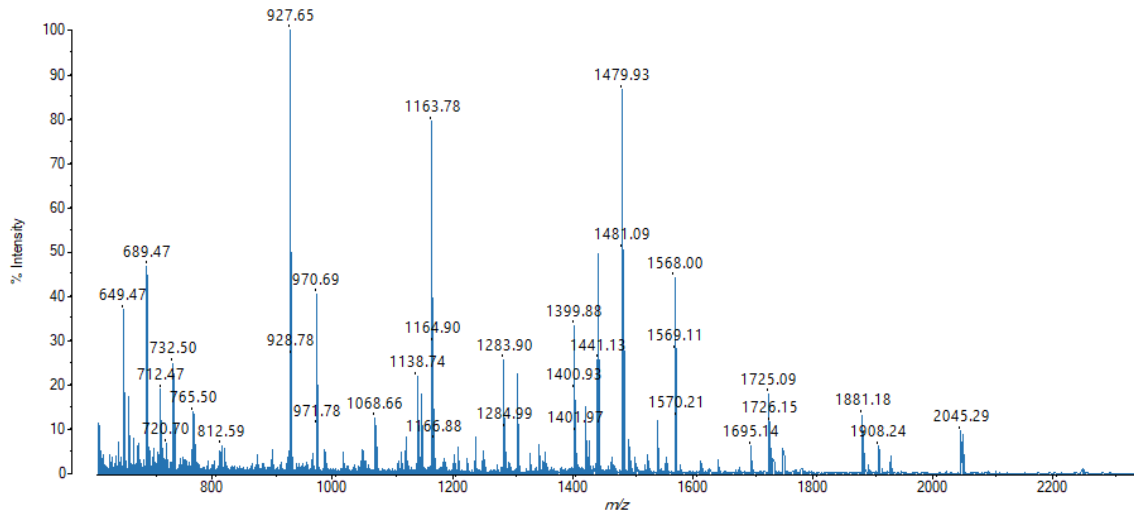


图 1 牛血清白蛋白的胰蛋白酶酶解产物的一级质谱图

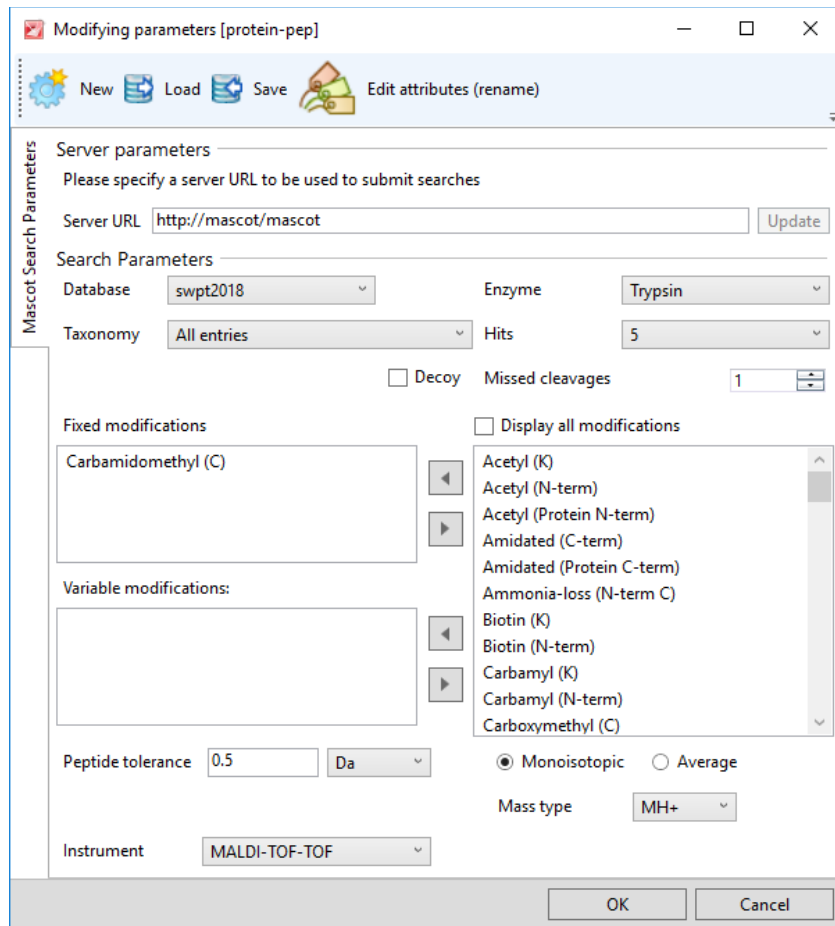
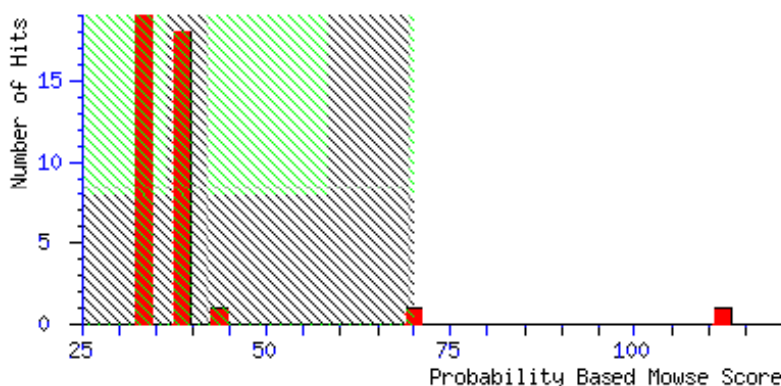


图 2. Mascot 检索参数



1. [sp|P02769|ALBU_BOVIN](#) Mass: 71244 Score: 112 Expect: 3.5e-006 Queries matched: 21
Serum albumin OS=Bos taurus OX=9913 GN=ALB PE=1 SV=4

Start - End	Observed	Mr (expt)	Mr (calc)	Delta	Miss Sequence
29 - 34	712.4700	711.4627	711.3664	0.0964	0 K.SEIAHR.F
66 - 75	1163.7800	1162.7727	1162.6234	0.1494	0 K.LVNELTEFAK.T
89 - 100	1419.9900	1418.9827	1418.6864	0.2963	0 K.SLHTLFGDELCK.V
118 - 122	658.4600	657.4527	657.3082	0.1445	0 K.QEPEP.N
156 - 160	665.5300	664.5227	664.3697	0.1530	1 K.KFWGK.Y
161 - 167	927.6500	926.6427	926.4861	0.1566	0 K.YLYEIAR.R
168 - 183	2045.2900	2044.2827	2044.0206	0.2621	1 R.RHPYFYAPELLYYANK.Y
205 - 209	649.4700	648.4627	648.3265	0.1362	0 K.IETMR.E
236 - 241	689.4700	688.4627	688.3656	0.0971	0 K.AWSVAR.L
347 - 359	1568.0000	1566.9927	1566.7354	0.2573	0 K.DAFLGSFLYEYSR.R
360 - 371	1439.9800	1438.9727	1438.8045	0.1683	1 R.RHPEYAVSVLLR.L
361 - 371	1283.9000	1282.8927	1282.7034	0.1894	0 R.HPEYAVSVLLR.L
402 - 412	1306.0200	1305.0127	1304.7088	0.3039	0 K.HLVDEPQNLIK.Q
413 - 420	1068.6600	1067.6527	1067.4342	0.2185	0 K.QNCDQFEK.L
421 - 433	1479.9300	1478.9227	1478.7881	0.1346	0 K.LGEYGFQNALIVR.Y
460 - 468	1166.8800	1165.8727	1165.4856	0.3871	0 R.CCTKPESER.M
469 - 482	1725.0900	1724.0827	1723.8273	0.2554	0 R.MPCTEDYLSLIINR.L
499 - 507	1138.7400	1137.7327	1137.4907	0.2420	0 K.CCTESLVNR.R
508 - 523	1881.1800	1880.1727	1879.9138	0.2589	0 R.RPCFSALTPDETYVPK.A
524 - 528	609.4600	608.4527	608.2806	0.1721	0 K.AFDEK.L
569 - 580	1399.8800	1398.8727	1398.6853	0.1874	0 K.TVMENFVAFVVK.C

图 3. 牛血清白蛋白酶解产物的一级 PMF 搜库结果

■ 结论

本文应用台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱 MALDI-8020 检测牛血清白蛋白的酶解产物，搜库结果与理论相符，成功匹配到了牛血清白蛋白的肽段序列。MALDI-8020 作为台式基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱，体积紧凑、分析速度快、仪器维护方便，性能卓越，是蛋白质序列分析的有力工具。